

## GLUCOSE-6-PHOSPHATE DEHYDROGENASE AND DNA CAPABLE OF CODING THE SAME

**[71] Applicant: MITSUBISHI CHEM**

**[72] Inventors:** HATAKEYAMA KAZUHISA;  
KUWABARA KOUICHIROU;  
KOBAYASHI MIKI;  
YUGAWA HIDEAKI

**[21] Application No.: JP08036345**

**[22] Filed: 19960223**

**[43] Published: 19970902**

[illegible]

**Go to Fulltext**

**[57] Abstract:**

**PROBLEM TO BE SOLVED:** To isolate the above enzyme, derived from a coryneform bacterium and capable of catalyzing a pentose phosphate cycle according to a gene recombination technology. **SOLUTION:** This glucose 6-phosphate dehydrogenase has an amino acid sequence represented by the formula. The enzyme is obtained by expressing a DNA (hereinafter referred to as a *zwf* gene), obtained from a chromosome of a coryneform bacterium, isolated and determined from a *Brevibacterium flavum* ML-233 (FERM BP-1497) strain and capable of coding the glucose 6-phosphate dehydrogenase in a coryneform bacterium. When the coryneform bacterium is transformed with the *zwf* gene, a bacterium capable of highly producing the glucose 6-phosphate dehydrogenase is obtained.

**[51] Int'l Class:** C12N00904 C07H02104 C12N01509 C12N00120  
C12N00904 C12R00113 C12N00120 C12R00113

【公報種別】特許法第17条の2の規定による補正の掲載  
【部門区分】第1部門第1区分  
【発行日】平成14年6月4日(2002.6.4)

【公開番号】特開平9-224661  
【公開日】平成9年9月2日(1997.9.2)  
【年通号数】公開特許公報9-2247  
【出願番号】特願平8-36345  
【国際特許分類第7版】

C12N 9/04  
C07H 21/04  
C12N 15/09 ZNA  
// C12N 1/20  
(C12N 9/04  
C12R 1:13 )  
(C12N 1/20  
C12R 1:13 )

【F1】

C12N 9/04 D  
C07H 21/04 B  
C12N 1/20 A

【手続補正書】

【提出日】平成14年3月8日(2002.3.8)

【手続補正1】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】特許請求の範囲

【補正方法】変更

【補正内容】

【特許請求の範囲】

【請求項1】 以下の(a)又は(b)のタンパク質。

(a)配列表の配列番号1記載のアミノ酸配列で示されるタンパク質

(b)配列表の配列番号1記載のアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

【請求項2】 請求項1記載のタンパク質をコードするDNA。

【請求項3】 配列表の配列番号1記載の塩基配列中629から2083までの塩基配列で示されるDNA。

【手続補正2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0005

【補正方法】変更

【補正内容】

【0005】

【課題を解決するための手段】本発明者らは、上記課題を解決すべく鋭意研究を重ねた結果、遺伝子組み換えの手法を駆使することにより、コリネ型細菌からグルコー

ス-6-リン酸デヒドロゲナーゼおよびそれをコードするDNAが単離可能であることを見出し、本発明を完成するに至った。すなわち、本発明の要旨は、以下の(a)又は(b)のタンパク質およびそれをコードするDNAに存する。

(a)配列表の配列番号1記載のアミノ酸配列で示されるタンパク質

(b)配列表の配列番号1記載のアミノ酸配列において1若しくは数個のアミノ酸が欠失、置換若しくは付加されたアミノ酸配列からなり、かつグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ活性を有するタンパク質。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0033

【補正方法】変更

【補正内容】

【0033】この結果、配列番号1記載の塩基配列中の1番目から1965番目の塩基配列が判明した。それを翻訳したタンパク質のアミノ酸一次構造と既知のエシェリシア・コリのグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸一次構造との相同性の比較により、配列番号1記載の塩基配列中の629番目から1965番目がブレヴィバクテリウム・フラバムMJ-233のグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子のオープンリーディングフレームの上流であることが判明した。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0037

【補正方法】変更

【補正内容】

【0037】得られたDNAを前記の方法でpGEM-Tベクターに結合し、エシェリア・コリJM109でサブクローニングし、アルカリ-SDS法で抽出した。そして挿入断片の塩基配列をジデオキシヌクレオチド酵素法で決定した結果、配列番号1記載の塩基配列中196番目から2260番目の塩基配列であることが明らかになった。

【手続補正5】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0038

【補正方法】変更

【補正内容】

【0038】以上の結果、配列番号1に示す大きさ約2,260bpのDNA塩基配列を決定した。決定した塩基配列中にはオープンリーディングフレームの存在が認められた。それを翻訳したタンパク質のアミノ酸一次構造と既知のエシェリア・コリのグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼのアミノ酸一次配列構造との相同性比較により、配列表の配列番号1記載の塩基配列中629番目から2083番目がプレバクテリウム・フラバムMJ-233のグルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ遺伝子であり、該酵素のアミノ酸配列は配列番号1記載のアミノ酸配列であることが判明した。